Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg
Vorstand: Professor Dr. M. Knorr

Untersuchung eines Desinfektionsmittels „D" in Bezug auf seine keimschädigende Wirkung

Inaugural-Dissertation
verfaßt und der Hohen Medizinischen Fakultät
der Bayr. Julius-Maximilians-Universität in Würzburg
zur Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von Heinrich Thiemann genannt Platte aus Lütgendortmund

1938

Referent: Professor Dr. M. Knorr

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät, Würzburg

Meiner lieben Schwester
in Dankbarkeit
gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549802_0033

Bei der Prüfung neuartiger Desinfektionsmittel, die in Bezug auf Geruch, Geschmack und Giftigkeit allen Anforderungen entsprechen, fiel uns ein in der Zusammensetzung noch nicht bekanntes Mittel „D" auf, das außerordentlich schnell die Keimzahlen herabsetzte. Für die Bewertung dieses Mittels schien es nun wichtig, zu wissen, ob die wenigen in Kulturversuchen überlebenden Keime noch infektionstüchtig sind. Wäre dies nicht der Fall, so würde ihr gelungener Nachweis die Bewertung nicht verschlechtern — im Gegenteil man würde hier einen Weg zur spezifischen Schädigung bestimmter Bakterieneigenschaften sehen.

Die vorliegende Arbeit hat eine Desinfektionsmittelprüfung zum Mittelpunkt; und zwar soll ein Desinfizienz „D" nicht in Bezug auf seine keimtötende sondern -schädigende Wirkung untersucht werden. Es gilt also hier experimentell die Frage zu beantworten, ob ein pathogener Krankheitserreger durch eine mehr oder weniger lang andauernde Einwirkung des Mittels in seiner Virulenz derartig geschädigt wird, daß er als nunmehr infektionsuntüchtiger Keim praktisch vernachlässigt werden kann, obwohl er in Kulturversuchen noch Vermehrung zeigt.

Es wird hier die Art der Desinfektionsmittelprüfung mittels Tier- und Kulturversuch gewählt. Nur auf diese Weise kann darüber etwas ausgesagt werden, ob ein desinfizierter Keim seiner früheren Virulenz nahe kommt oder nicht.

Die Versuche werden zunächst mit einem Breslaustamm später mit hochvirulenten Diphtheriebazillen durchgeführt.

I. Versuche mit Breslau-(Mäusetyphus)-Bazillen

Zu sechs 18stündig, bei 37 Grad bebrüteten Breslaukulturen auf Schrägagar werden je 2 ccm steriler physiolog. Kochsalzlösung gegeben, die Bazillen abgeschwenkt, und diese Aufschwemmung durch

ein Glaswattefilter geschickt. Von dieser Bakterienemulsion wird nun je ein ccm mit 24, 49 und 99 ccm steriler physiolog. Na Cl-Lösung zusammengebracht, somit die Stammverdünnungen 1:25, 1:50, 1:100 hergestellt. Im Hauptversuch werden je 5 ccm des Mittels in der Konzentration 1:25 mit gleichen Teilen der obengenannten Verdünnungen gemischt; in der Kontrolle vertritt eine sterile physiolog. Na Cl-Lösung das Desinfizienz. Nach einer Einwirkungszeit von 15 Minuten gebe ich einen ccm dieses Breslau-Desinfizienz-Gemisches zu 99 ccm Na Cl und verimpfe zur Feststellung des Desinfektionsergebnisses von dieser letzten Verdünnung (1:100) je ½ ccm zunächst auf 2 bzw. 3 weiße Mäuse, — subcutan, oberhalb der Schwanzwurzel — dann wird die gleiche Menge mit Agar bei ungefähr 52° vermischt, zu Zählplatten ausgegossen und schließlich noch zu Leber- und Traubenzuckerbrühe gegeben, um zu sehen, ob überhaupt lebensfähige Keime vorhanden sind. Am nächsten Tag wird die dem Mittel ausgesetzte und injizierte Keimmenge im Mittel an Hand der verimpften Agarplatten bestimmt.

Um die künstliche Kultur als tatsächlichen Maßstab für die dem Tier einverleibte Bakterienzahl anlegen, und somit eine während der Injektionen mögliche Nachwirkung des Mittels auf die Keime, selbst bei Verdünnung von 1:5000, ausschließen zu können, schalte ich folgenden Nebenversuch ein.

Mit je 1 ccm einer 1:7000000 verdünnten Kulturaufschwemmung lege ich 4 Agarplatten an. Weiterhin gebe ich in 50 ccm dieser Verdünnung 1 ccm des Mittels in der Konzentration 1:50, so daß sich daraus eine Verdünnung 1:2500 ergibt. Nach 15 Minuten Einwirkung werden ebenfalls je 1 ccm auf 4 Agarnährböden ausgesät. Bei Auszählung der Platten weisen die Durchschnittszahlen der desinfizierten Keime gegenüber denen der unbehandelten Bakterien keine nennenswerte Differenz auf (1340:1315). Demzufolge scheidet eine Nachwirkung des Desinfizienz, die sich in einer Keimabnahme oder Entwicklungshemmung zeigen müßte, für die Beurteilung meiner Versuche mit derartig starker Verdünnung (1:5000) und kurz dauernden Einwirkungszeiten vollkommen aus.

Die Na Cl-Kontrollversuche schließen sich jeweils den entsprechenden Versuchen mit dem Mittel „D" an. Hier werden 5 ccm steriler physiolog. Na Cl-Lösung zu je 5 ccm der einzelnen Stammverdünnungen (1:25, 1:50, 1:100) gegeben, — Konzentrationen nunmehr 1:50, 1:100, 1:200 — weitere Verdünnungen ebenfalls wie im Hauptver-

such erst nach 15 Minuten vorgenommen. Um geeignete Keimzahlen von etwa 200—1200 pro 0,5 ccm zu erhalten, werden dann — bei Annahme von 10—15 Milliarden Keimen pro ccm Kulturaufschwemmung — diese bereits erwähnten Konzentrationen weiter 1 : 100 000 verdünnt. Anschließend wird genau wie oben jeweils 0,5 ccm dieser Endverdünnung unbehandelter Keime sowohl auf das Tier als auch zur Feststellung der angewendeten Keimmenge auf den künstlichen Nährboden verimpft.

Nach dem Tode einer Maus wird das Herzblut auf Drigalsky-Agar ausgestrichen und Organe wie Milz, Leber, Herz in Brilliantgrünbrühe gegeben. Die gewachsenen Kulturen werden bezüglich Breslau auf Indol, Gas- und Säurebildung und Agglutination hin untersucht. Von Versuch 4 an werden nunmehr auch die durch Chloroform getöteten Versuchstiere seziert; hinsichtlich der Frage Bazillenträger in oben angeführter Weise nach Breslau gesucht.

Versuch 1

D					Na Cl				
Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau	Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau
1	17,9 g	— *)	werden		3	20 g	600	16 Tg.	+
2	18 g	—	nach		4	24,5 g	600	13 Tg.	+
5	16,9 g	—	20 Tg.		7	21,5 g	4000	10 Tg.	+
6	18,5 g	—	getötet		8	21 g	4000	11 Tg.	+
9	20,5 g	42	„		11	18,3 g	156	18 Tg.	+
10	22,9 g	42	„		12	17,2 g	156	12 Tg.	+

*) Im Versuch nichts gewachsen.

Versuch 2

D					Na Cl				
Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau	Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau
D_1	22,5 g	1 100	17 Tg.	+	N_1	19,5 g	550	8 Tg.	+
D_2	20,9 g	1 100	9 Tg.	+	N_2	18,5 g	550	19 Tg.	+
D_3	14,8 g	— *)	werden nach 21 Tagen getötet		N_3	15,5 g	298	15 Tg.	+
D_4	14,8 g	— *)			N_4	14,3 g	298	7 Tg.	+

*) Im Versuch nichts gewachsen.

Versuch 3

D					Na Cl				
Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau	Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau
A_1	26,8 g	3 200	19 Tg.	+	B_1	19,1 g	1 152	11 Tg.	+
A_2	27,4 g	3 200	14 Tg.	+	B_2	16,1 g	1 152	14 Tg.	+
C_1	11,3 g	850	11 Tg.	+	D_1	17,1 g	715	12 Tg.	+
C_2	16,7 g	850	16 Tg.	+	D_2	17,7 g	715	16 Tg.	+
E_1	14,4 g	480	9 Tg.	+	F_1	14,7 g	350	8 Tg.	+
E_2	16,1 g	480	11 Tg.	+	F_2	15,7 g	350	8 Tg.	+
G_1	14,9 g	8	werden						
G_2	16,3 g	8	nach 28						
H_1	14,6 g	8	Tagen						
H_2	17,6 g	8	getötet						

Versuch 4

(Andere Mäuse, auch für folgende Versuche)

D					Na Cl				
Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau	Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau
1	15,6 g	1 580	11 Tg.	+	4	17,4 g	1 550	*)	—
2	14,2 g	1 580	*)	—	5	15,6 g	1 550	19 Tg.	+
3	12,7 g	1 580	15 Tg.	+	6	16 g	1 550	*)	—
7	11,6 g	190	12 Tg.	+	10	14,4 g	730	*)	—
8	17,7 g	190	*)	+	11	11,3 g	730	14 Tg.	+
9	16,6 g	190	*)	—	12	12,5 g	730	*)	—
13	13,4 g	13	24 Tg.	+	16	17,5 g	385	27 Tg.	+
14	14,8 g	13	*)	—	17	12,9 g	385	*)	—
15	11,9 g	13	*)	—	18	17,5 g	385	14 Tg.	+

*) nach 27 Tagen getötet; auf Breslau untersucht.

Versuch 5

D					Na Cl				
Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau	Maus		Keimzahl	gest. nach	Breslau
A_1		3 100	14 Tg.	+	B_1		924		
A_2		3 100	8 Tg.	+	B_2		924	15 Tg.	+
A_3		3 100			B_3		924	10 Tg.	+
C_1		2 934	8 Tg.	+	D_1		610	17 Tg.	+
C_2		2 934	6 Tg.	+	D_2		610	8 Tg.	+
C_3		2 934	26 Tg.	+	D_3		610	8 Tg.	+
E_1		1 293	8 Tg.	+	H_1		380	11 Tg.	+
E_2		1 294	7 Tg.	+	H_2		380	11 Tg.	+
E_3		1 293			H_3		380	12 Tg.	+

Versuch 6

D				Na Cl			
Maus	Keimzahl	gest. nach	Breslau	Maus	Keimzahl	gest. nach	Breslau
I	6 000	8 Tg.	+	IV	838	10 Tg.	+
II	6 000	13 Tg.	+	V	838	11 Tg.	+
III	6 000	7 Tg.	+	VI	838	7 Tg.	+
VII	3 000	8 Tg.	+	X	2 800		
VIII	3 000	19 Tg.	+	XI	2 800		
IX	3 000	11 Tg.	+	XII	2 800	22 Tg.	+
XIII	1 400			XVI	244		
XIV	1 400	16 Tg.	+	XVII	244		
XV	1 400			XVIII	244	7 Tg.	+

Versuch 7

D				Na Cl			
Maus	Keimzahl	gest. nach	Breslau	Maus	Keimzahl	gest. nach	Breslau
1	4 646			4	770		
2	4 646			5	770		
3	4 646	19 Tg.	+	6	770	12 Tg.	+
7	745	11 Tg.	+	10	412		
8	745			11	412		
9	745			12	412		
13	495			16	161	10 Tg.	+
14	495			17	161		
15	495	18 Tg.	+	18	161	18 Tg.	+

In der Auswertung meiner Kultur- und Tierversuche bin ich zu folgendem Ergebnis gekommen. Die tödliche Dosis unbehandelter Breslaubazillen für eine Maus bewegt sich zwischen rund 300 bis 1200 Keimen bei Inkubationszeiten von 8 bis 15 Tagen; natürlich beide Male mit Abweichungen nach oben und unten. Irgendwelche Abhängigkeit von der Keimzahl zur Erkrankungszeit liegt — wenigstens in dem oben erwähnten Spielraum — nicht vor, auch dürfte dabei das Gewicht keine sehr große Rolle spielen.

Eine wachstumhemmende und virulenzschädigende Eigenschaft des Mittels auf die Bazillen läßt sich in meinen Versuchen nicht feststellen. Für diese Keime gelten die gleichen Daten wie oben. Die einer

Schädigung durch dieses Desinfizienz gegenüber resistenten Mikroorganismen erleiden demnach weder in ihrer Vermehrungsfähigkeit noch in ihrer Infektiosität irgendwelchen Schaden. Das bakterizide Vermögen dieses Mittels reicht also nicht aus, eine Infektion mit einer sonst krankmachenden Dosis von Breslaubazillen nicht aufkommen zu lassen.

Vereinzelt ließ sich sogar eine im Kampfe mit dem Desinfektionsmittel erworbene Ausleseerscheinung der Keime vermuten; die erzielten Erfolge mit 13 (Versuch 4, 13) und in früheren, hier nicht aufgeführten Versuchen mit 50 und 150 desinfizierten Keimen stützen diese Annahme.

Ueberraschend ist in den letzten Versuchsreihen, für die eine neue Sendung Mäuse benötigt wurde, daß verschiedene Versuchstiere erst spät oder überhaupt nicht starben. Der Grund dafür liegt wohl nicht in einer vorübergehenden Virulenzabschwächung der Keime durch mitverimpftes adsorbiertes Desinfizienz, das nun im Tierkörper eine nachträgliche Wirkung entfalten könnte, denn bei den Na Cl-Kontrolltieren ist die gleiche Erscheinung zu beobachten, sondern in einer durch Infektion erworbenen Immunität der Mäuse, einem Moment, dem gerade bei Versuchen mit Mäusen und Breslau-(Mäusetyphus)-Bazillen besondere Beachtung zu schenken ist. Eine anderweitig bedingte Virulenzabnahme des Breslaustammes läßt sich durch anschließend angestellte Versuche an wiederum anderen Mäusen ausschließen, da diese Versuchstiere innerhalb der angegebenen Frist eingegangen sind.

In diesem Zusammenhang sei noch erwähnt, daß auch in der Milz und Leber einer der zehn durch Chloroform getöteten Mäuse des Versuches 4, die nach 27 Tagen noch nicht gestorben waren, Breslau gezüchtet wurde.

II. Versuche mit Diphtheriebazillen

Die Ernte einer 24stündigen Diphtheriekultur auf einer Serumplatte wird in 2 ccm steriler physiolog. Na Cl-Lösung aufgeschwemmt. Für den Kontrollversuch wird je eine Öse davon zur Toxingewinnung auf Ascitesbrühe und zur Feststellung des Wachstums auf einen Serumagarnährboden verimpft. Dann gebe ich einen ccm dieser Kulturaufschwemmung mit einem ccm des Mittels in der Konzentration 1 : 50 zusammen und verimpfe nach bestimmten Einwirkungszeiten — für Stamm A bis zu 20 Minuten, für Stamm B bis zu 40 Minuten —

wiederum wie oben je eine Öse auf Ascitesbrühe und Serumagar. Nach 4tägiger Bebrütung bei 37 ° werden die Brühekulturen, deren Bakterien sich an Hand der Kontrollplatten noch als lebensfähig erweisen — Stamm A zeigt nach 20 Minuten noch deutliches Wachstum, Stamm B nach 40 Minuten dasselbe — weiter 1:10 verdünnt. Mit diesen Bakterien-Toxinverdünnungen führe ich an Anlehnung an die Römersche Methode meine Versuche an Meerschweinchen durch.

Die Versuchstiere 13 und 14 werden mit je 0,6 ccm (0,1 an der Brust, 0,5 am Bauch) dieser zu prüfenden Verdünnungen intracutan gespritzt, und zwar so, daß auf der rechten Seite des Tieres die Quaddeln mit den desinfizierten Keimen, auf der linken die mit der Kontrollverdünnung sich vorfinden. Für die folgenden Versuche wird nun eine Trennung in „D"- und Kontrolltiere vorgenommen. Zunächst wird als Dosis 0,6 ccm pro Tier beibehalten, später dagegen den Tieren nur noch 0,3 ccm (0,1 + 0,2) intracutan appliziert.

Auch in diesen Versuchen schließt sich an den Tod eines jeden Tieres die Sektion an, um jede andere Todesursache als das Di-Toxin auszuschließen. Das typische Bild eines Di-Todes äußert sich in einem sulzigen Oedem der Bauchwand, Herzstillstand in der Diastole, und einer roten Verfärbung der Nebenniere.

Stamm A. („D" 20 Minuten)				Stamm B. („D" 40 Minuten)			
Tier	Dosis	Nekrose	Exitus	Tier	Dosis	Nekrose	Exitus
13	0,6 ccm m. D		nach				nach
	0,6 ccm o. D		2 Tg.				
	0,6 ccm m. D						
14	0,6 ccm o. D		2 Tg.				
15	0,6 ccm m. D		2 Tg.	2716	0,6 ccm o. D		2 Tg.
16	0,6 ccm o. D	stark		2717	0,6 ccm m. D		2 Tg.
2718	0,3 ccm m. D	stark		2719	0,3 ccm o. D	stark	5 Tg.
2720	0,3 ccm o. D	stark		2721	0,3 ccm m. D	stark	2 Tg.

m. D = Bakterien mit ihren Toxinen, die dem Mittel ausgesetzt waren.
o. D = unbehandelte Bakterien mit ihren Toxinen.

Die Sektion der eingegangenen Tiere zeigte das typische Bild des Di-Todes.

Versuche 13 und 14 scheiden in der Beurteilung meiner Tabelle aus, als sie hinsichtlich der Wirkung des Desinfizienz nichts auszusagen vermögen. Sonst stimmen die ermittelten Ergebnisse durchaus mit den bei Breslau gefundenen Resultaten überein. Hier wie dort wird ein Desinfektionserfolg vermißt, wobei natürlich von dem Verschwinden der weniger resistenten Bazillen abzusehen ist. Eine Schädigung der überlebenden Keime müßte sich in Toxinschwund zeigen. Die geschwächten Krankheitserreger würden höchstens als ganz schwache Toxinbildner kleine Rötungen oder geringe Infiltrationen am Ort der Infiltration erzeugen. Nekrosen aber oder gar den Tod des Tieres zu verursachen, diese Fähigkeit müßte ihnen abgehen. Doch von solch einem Desinfektionsergebnis ist in meinen Versuchen nichts festzustellen. Die desinfizierten Bazillen haben durchaus nicht in ihrer Giftigkeit Einbuße erlitten; von harmlosen Keimen kann keineswegs gesprochen werden. Sie bilden nach der Desinfektion weiterhin ihre Toxine, die ebenso die schweren Nekrosen, bzw. den Tod des Tieres im Gefolge haben wie die Gifte der unbehandelten Diphtheriestäbchen. Ja, im Fall 15 und 2721 sind die „D"-Tiere bereits nach zwei Tagen dem Toxin erlegen, während das eine Kontrolltier 2719 erst nach fünf Tagen eingegangen ist, das andere 16 sogar heute noch (nach sechs Tagen) lebt. Auch diese Tatsache läßt die Annahme einer Auslese, etwa einer konzentrierten Toxinbildung vermuten; zumal es sich hier um wenige Keime handelt, welche die erforderliche Dosis letalis des Giftes bilden mußten.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß eine Virulenzabschwächung der in den Desinfektionsversuchen überlebenden Keime nicht eintrat. Der regelmäßige Versuchsausfall lehrt, daß man hier durch größere Reihenversuche voraussichtlich zu keinem anderen Ergebnis kommen wird. Im Sinne des Tierschutzgesetzes wurde so von weiteren Versuchen abgesehen. — Es scheint aber wichtig, daß jedes neue Desinfektionsmittel nach diesen Gesichtspunkten untersucht wird. Es wäre von weittragender Bedeutung für die Verbreitung infektiöser Erkrankungen, falls es gelingen würde, Mittel an dem die Virulenz bedingenden Teil der Bakterienzelle angreifen zu lassen.

Schrifttum

Lange, B.: Ztschr. f. Hyg. 1923, Bd. 100, S. 249
Ztschr. f. Hyg. 1926, Bd. 105, S. 214
Zlb. f. Bakt. 1923, Bd. 75, S. 568

Smorodinzeff: Ztschr. f. Desinfekt. 22, 202-19/1930

Hahn: Ztschr. f. Hyg. 1922, Bd. 98, 5960

Behring: Ztschr. f. Hyg. 1890, Bd. 9, S. 395

Hailer: Ztschr. f. angew. Chemie 1923, S. 423

Geppert: Dtsch. Med. Woschr. 1891, S. 797

Lebenslauf

Geboren am 19. 2. 1910 zu Lütgendortmund, jetzt Dortmund, als Sohn des im Jahre 1924 verstorbenen Gastwirtes Heinrich Thiemann, genannt Platte, und seiner Ehefrau Maria geb. Wortmann, besuchte ich 5 Jahre die katholische Volksschule zu Lütgendortmund, weitere 5 Jahre die Rektoratschule daselbst, anschließend 4 Jahre das Hindenburgrealgymnasium zu Dortmund, das mich zu Ostern 1930 mit dem Reifezeugnis entließ. Seit dem S. S. 1930 studiere ich Medizin in Würzburg, wo ich Januar 1936 das Staatsexamen bestand. Gegenwärtig bin ich Medizinalpraktikant am Hygienischen Institut der Universität Würzburg.

Würzburg, den 26. Mai 1936.

Ich versichere hiermit ehrenwörtlich, daß ich vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe außer der angegebenen Literatur verfaßt habe.

Heinrich Thiemann genannt Platte

Am Schlusse meiner Arbeit sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Knorr für freundliche Überlassung des Themas und Übernahme des Referates meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Ebenso danke ich Herrn Dr. Nickel, Assistenten am Hygienischen Institut, für die liebenswürdige Unterstützung.

Ausführung:
Druckerei- und Verlagsgesellschaft, Wulff & Co., Dortmund-Lütgendortmund